COVID-19 Hastalarında Koinfeksiyondan Sorumlu Etkenlerin Araştırılması

Investigation of Respiratory Pathogens Responsible for Coinfection in COVID-19 Patients

Sabiha Salar-Gül[1], Nurullah Çiftçi[2], Hatice Türk-Dağı[1], Uğur Arslan[1]

[1]*Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye;* [2]*Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye*

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, COVID-19 saptanan ve hastaneye yatan hastalarda eşlik eden infeksiyon etkenlerinin oranının belirlenmesi, koinfeksiyona neden olabilecek etiyolojik ajanların araştırılması, eşlik eden patojen saptanan hastaların klinik özelliklerinin ortaya konması amaçlandı. Ayrıca, bu çalışma ile viral infeksiyonlarda eşlik eden koinfeksiyonları belirleyerek gereksiz antibiyotik kullanımının ve antimikrobiyal direncin önüne geçilmesi hedeflendi.

Yöntemler: Çalışmaya, 1 Eylül 2021- 28 Şubat 2022 tarihleri arasında Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na COVID-19 ön tanısıyla gönderilmiş, SARS-CoV-2 için RT-PCR testi pozitif sonuçlanmış ve hastaneye yatışı yapılmış, toraks bilgisayarlı tomografi bulguları COVID-19 ile uyumlu bulunan, biyokimyasal parametreleri koinfeksiyonu düşündüren 76 hasta örneği dâhil edildi. Hastaların solunum yolu örneklerinde diğer solunum yolu patojenleri multipleks PCR cihazında çalışıldı.

Bulgular: SARS-CoV-2'ye eşlik eden bir veya daha fazla patojen 76 hastanın 54 (%71.1)'ünde saptandı; 35 hastada bir, 19 hastada ise birden fazla patojen görüldü. En sık saptanan patojenler; 24 (%31.6) hastada *Staphylococcus aureus*, 18 hastada (%23.7) influenza virusları ve 15 (%17.1) hastada *Streptococcus pneumoniae* idi. Koinfeksiyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasında mortalite oranları, hastanede kalış süreleri, yatış yeri, karşılaştırılan biyokimyasal parametreler (C-reaktif protein, prokalsitonin, laktat dehidrogenaz, D-dimer, ferritin düzeyleri ve lenfosit sayısı) açısından anlamlı düzeyde bir fark saptanmadı.

Sonuç: Çalışmamızda eşlik eden patojen saptanan hastalarda mortalite oranları ve hastanede kalış süresi gibi parametrelerde anlamlı düzeyde bir fark saptanmamış olmakla birlikte klinisyenlerin hastaneye yatan hastaların takip ve tedavisinde koinfeksiyon riskini göz önünde bulundurarak şüphelenilen durumlarda uygun testleri yaptırmaları gerektiğini düşünüyoruz. Çalışmamız SARS-CoV-2'ye eşlik eden viral bakteriyel etkenlerin azımsanmayacak düzeyde olduğunu ve bu etkenlerin kliniğe olan etkilerini incelemek için daha spesifik ve geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu gösterdi. Ayrıca pandemi süresince özellikle riskli gruplarda COVID-19 aşılarının yanında, influenza ve pnömokok aşılarının göz ardı edilmemesi gerektiğini düşünüyoruz.

Anahtar sözcükler: COVID-19, koinfeksiyon, polimeraz zincir reaksiyonu

ABSTRACT

Objective: This study aims to determine the coinfection rate of hospitalized COVID-19 patients, investigate the etiological agents causing coinfection, and reveal the clinical characteristics of patients with coinfection. In addition, by identifying coinfections accompanying viral infections, we aim to prevent unnecessary antibiotic use and antimicrobial resistance.

Methods: This study analyzed 76 hospitalized patients with prediagnoses of COVID-19 between Sep 2021 and Feb 2022. They had a positive RT-PCR test for SARS-CoV-2, compatible thoracic Computed Tomography findings, and biochemical parameters indicating coinfection. Patients' respiratory samples were tested for other respiratory pathogens by multiplex PCR.

Results: Out of 76 patients, 54 (71.1%) were found to have one or more pathogens along with SARS-CoV-2. Among these patients, 35 had a single pathogen, while 19 had multiple pathogens. The most common pathogens were *Staphylococcus aureus* in 24 (31.6%) patients, influenza viruses in 18 patients (23.7%), and *Streptococcus pneumoniae* in 15 (17.1%) patients. There was no significant difference between mortality rates, length of hospital stay, hospitalization site, biochemical parameters (C-reactive protein, procalcitonin, lactate dehydrogenase, D-dimer, lymphocyte count, ferritin level) between patients with and without coinfection.

Conclusion: Although no significant difference was found in parameters such as mortality rates and length of hospital stay in patients with comorbid pathogens in our study, we think that clinicians should take the risk of coinfection into account in the follow-up and treatment of hospitalized patients and perform appropriate tests in suspected cases. Our study showed that the viral and bacterial pathogens accompanying SARS-CoV-2 are significant and that more specific and large-scale studies are needed to examine the clinical effects of these factors. We also believe that influenza, pneumococcal, and COVID-19 vaccines should not be ignored, especially in risk groups, during the pandemic.

Keywords: COVID-19, coinfection, polymerase chain reaction

Cite this article as: Salar-Gül S, Çiftçi N, Türk-Dağı H, Arslan U. [Investigation of respiratory pathogens responsible for coinfection in COVID-19 patients]. Klimik Derg. 2024;37(2):91-6. Turkish. **Sorumlu Yazar / Correspondence:** Nurullah Çiftçi, **E-posta / E-mail:** ciftcinurullah72@gmail.com, **Geliş / Received:** 26 Eylül / September 2023, **Kabul / Accepted:** 22 Şubat / February 2024, **Yayın Tarihi / Published Date:** 29 Haziran / June 2024, **DOI:** 10.36519/kd.2024.4769

GİRİŞ

Solunum yolu viral infeksiyonlarında, virusun solunum yollarını histolojik ve fonksiyonel olarak tahrip etmesi gibi nedenlerden dolayı koinfeksiyonlar ve süperinfeksiyonlar yaygındır. Virusun tipine bağlı olarak histopatolojik değişiklikler farklı olabilir; hücre apaptozu, hiperplazi, azalmış mukozal klirens ve bozulmuş yüzey aktif madde sekresyonu bu değişikliklerden bazılarıdır. Klinik ve epidemiyolojik çalışmalara göre viral solunum yolu etkenleri ile infekte hastalarda, viral ya da bakteriyel olabilen sekonder infeksiyonların mortaliteyi önemli ölçüde artırabildiği bilinmektedir (1). COVID-19 hastalığı viral bir infeksiyon olmasına rağmen, antibiyotikler büyük ölçüde şüpheli bakteriyel koinfeksiyonlardan dolayı hastalara sıklıkla reçete edilmektedir. Daha önceki influenza salgınlarında olduğu gibi koinfeksiyonlar ve mortaliteye olan etkileri nedeniyle antibakteriyel kullanımının pandemi süresince de yaygın olduğu bilinmektedir. COVID-19 ile hastaneye yatırılan hastalarda bakteriyel koinfeksiyon ve sekonder infeksiyon prevalansı sırasıyla %3.5 ila %14.3 ile nispeten düşükken COVID-19 hastalarının yaklaşık dörtte üçüne antibiyotik reçete edildiği bildirilmiştir (2). Rawson ve arkadaşları (3) yaptıkları çalışmada, hastaneye yatan hastaların %72'sine antibiyotik reçete edildiğini ancak bunların sadece %8'ine bakteriyel/fungal koinfeksiyonun eşlik ettiğini bildirmiştir.

COVID-19 pandemisi süresince artan antibiyotik kullanımının antimikrobiyal direnç üzerinde ortaya çıkabilecek uzun vadeli etkileri endişe uyandırmaktadır. Antimikrobiyal direnç kaynaklı olarak tedavi edilemeyen infeksiyonlardan dolayı önümüzdeki yıllarda milyonlarca ölüm meydana gelmesi beklenmektedir. Bu durumun halk sağlığına etkilerinin yanı sıra büyük bir ekonomik yüke neden olacak olması da endişe uyandırmaktadır (4). Pandeminin yayılmasını önlemek için uygulanan önlemlerin diğer solunum yolu viruslarının da bulaşmasını azaltmakta etkili olduğu bilinmektedir (5). Bu önlemlerin birçok ülke tarafından azaltılması ya da tamamen kaldırılması nedeniyle ilerleyen zamanlarda SARS-CoV-2 ile birlikte diğer solunum yolu viruslarının koinfeksiyonlarının artması beklenmektedir.

Hastalarda koinfeksiyon oranlarının belirlenmesinin ve koinfeksiyona neden olan etkenlerin saptanmasının tedavilerin uygun bir şekilde düzenlenmesine katkı sağlamasının yanı sıra klinisyenlere antimikrobiyal kullanımının gerekli olup olmadığı konusunda da fikir vereceği düşünülmektedir. Bu durum hem gereksiz antibiyotik kullanımının önüne geçecek hem de antibiyotiklere karşı direnç gelişmesini engelleyecektir. Ayrıca COVID-19 koinfeksiyonu ile ilişkili risk faktörlerinin belirlenmesi de tedavi yönetiminin düzenlenmesine, kaynakların daha etkin kullanılmasına katkı sağlayacaktır. Bu çalışmada, COVID-19 saptanan ve hastaneye yatan hastalarda viral koinfeksiyon oranının belirlenmesi, eşlik eden diğer etiyolojik ajanların araştırılması, COVID-19'a eşlik eden patojen saptanan hastaların klinik özelliklerinin ortaya konması amaçlandı.

Tablo 1. Hastalarda Bulunan Ek Hastalıklar

	n (%)
Hipertansiyon	39 (51.3)
Diabetes Mellitus	25 (32.8)
Pulmoner Hastalık*	23 30.2)
Kardiyak Hastalık**	22 (28.9)
Malignite	11 (14.4)
Otoimmün Hastalık***	7 (9.2)
Kronik Böbrek Hastalığı	4 (5.3)

*Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, astım, interstisyel akciğer hastalığı.
**Koroner arter hastalığı, kalp yetmezliği, aritmi.
***Romatoid artrit, multipl skleroz, ailevi Akdeniz ateşi, myastenia gravis, otoimmün hepatit.

YÖNTEMLER

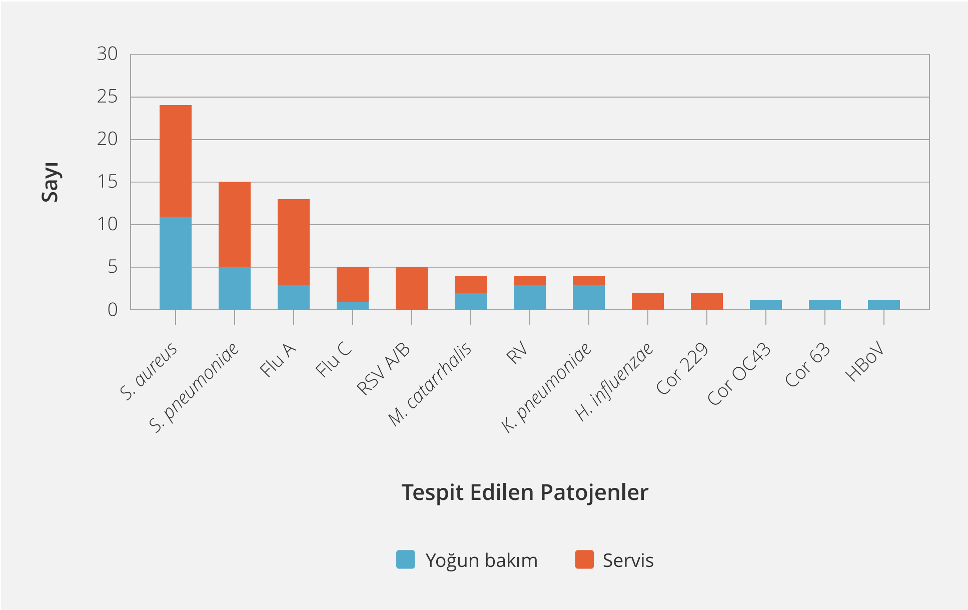
Çalışmaya, 01 Eylül 2021- 28 Şubat 2022 tarihleri arasında Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na COVID-19 ön tanısıyla gönderilmiş, SARS-CoV-2 için RT-PCR testi pozitif sonuçlanmış ve hastaneye yatışı yapılmış, toraks bilgisayarlı tomografi bulguları COVID-19 ile uyumlu bulunan, biyokimyasal parametreleri koinfeksiyonu düşündüren 76 hasta örneği dâhil edildi. Solunum yolu örnekleri Sağlık Bakanlığı Rehberi'nde önerildiği şekilde kombine sürüntü olarak alınmıştı (6). Daha önce hastaneye başvurmuş, 18 yaşından küçük ve farklı tedaviler almış hastaların örnekleri çalışmaya alınmadı. Hastaneye ilk defa semptomlarla başvuran, daha önce tedavi almamış, başvuru sırasında alınan RT-PCR testi pozitif sonuçlanmış ve Sağlık Bakanlığı Rehberi (7)'ne göre hastaneye yatış kriterlerini karşılayan hastalar çalışma kapsamına alındı. Hastalara ait C-reaktif protein (CRP), ferritin, laktat dehidrogenaz (LDH), D-dimer, hemogram ve prokalsitonin (PCT) verileri hastane bilgi yönetim sisteminden temin edildi. Hastaların, hastaneye yatışlarından itibaren 48 saat içinde istenen biyokimyasal testlerin verileri çalışmaya dâhil edildi.

Nükleik asit (NA) ekstraksiyonu, NA korunması ve patojen inaktivasyonu için kullanılan Bio-Speedy® vNAT® transfer tüpünde (Bio-Speedy, Türkiye) nükleik asit ekstraksiyonu tamamlanmış olan numunelerin SARS-CoV-2 için gerçek zamanlı PCR testleri, "Rotor-Gene Q" (Qiagen N.V., Hollanda) cihazında SARS-CoV-2 "Emerging Plus" (Bio-Speedy, Türkiye) PCR kiti kullanılarak firma önerileri doğrultusunda çalışıldı. Örneklerdeki patojenlerin DNA/RNA izolasyon işlemi; çalışan güvenliğinin ve standardizasyonun sağlanması daha kolay olduğu için DNA ve RNA'nın eşzamanlı saflaştırılmasını sağlayan tam otomatik bir sistemle çalışan "EZ1 Advanced" (Qiagen N.V., Hollanda) cihazı ve "EZ1 Virus Mini Kit v2.0" (Qiagen N.V., Hollanda) ile gerçekleştirildi.

Multipleks PCR uygulaması "FTD Respiratory Pathogens" 33 (Siemens Healthineers Company, Almanya) kiti kullanılarak bir RT-PCR cihazı olan Rotor-Gene Q (Qiagen N.V., Hollanda) cihazında çalışıldı. Söz konusu kit; *Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae B, Staphylococcus aureus, Moraxella catarrhalis, Bordetella, Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila* ve *Salmonella* etkenlerini tespit edebilmektedir. Ayrıca influenza A virusu (H1N1), influenza B virusu, influenza C virusu, insan koronaviruslarından NL63, 229E, OC43 ve HKU1, insan parainfluenza virusları 1-4, insan metapnömovirusları A/B, insan rhinovirus (RV), insan respiratuar sinsityal virus (RSV)'ları A/B, insan adenovirus, enterovirus, insan parechovirus, insan bocavirus (HBoV) dahil olmak üzere viral etkenler ile birlikte mantarlardan *Pneumocystis jirovecii*'yi tespit edebilmektedir.

İstatistiksel Analiz

İstatistik analizler, R yazılımı versiyon 3.6.0 (R Foundation, Avusturya; https://www.r-project.org/) ile yapıldı. Herhangi SARS-CoV-2'den farklı bir patojen mikroorganizma saptanıp saptanmaması durumunda, hastaların demografik ve klinik özellikleri ile kan parametreleri bağımsız örneklemler t-testi, Mann-Whitney U testi ve Yates süreklilik düzeltmeli χ^2 testleri ile karşılaştırıldı. Sayısal değişkenlere ait bulgular ortalama ± standart sapma (minimum-maksimum), medyan (IQR: çeyreklikler arası genişlik), medyan (minimum-maksimum), kategorik değişkenlere ait bulgular ise sıklık (n) ve yüzdelik (%) olarak sunuldu. İstatistiksel anlamlılık düzeyi %5 olarak alındı.



Şekil 1. Multipleks PCR ile Saptanan Patojenlerin Yoğun Bakımda ve Serviste Yatan Hastalara Göre Dağılımı

Tablo 2. Tek Patojenin Eşlik Ettiği Hastalarda Tespit Edilen Patojenler

	n (%)
S. aureus	10 (28.6)
İnfluenza A virus	7 (20.0)
İnfluenza C virus	5 (14.3)
S. pneumoniae	4 (11.4)
K. pneumoniae	3 (8.6)
H. influenza B	1 (2.8)
M. catarrhalis	1 (2.8)
Respiratuar Sinsityal viruslar A/B	1 (2.8)
Rhinovirus	1 (2.8)
Koronovirus NL63	1 (2.8)
İnsan bocavirus	1 (2.8)
Toplam	%100

BULGULAR

Çalışmamıza, SARS-CoV-2 için RT-PCR test sonucu pozitif olan ve hastaneye yatışı yapılmış %59.2'si erkek olmak üzere toplam 76 hasta dâhil edildi. Kadın hastaların yaş ortalaması 59.4, erkek hastaların yaş ortalaması 58.8 ve tüm hastaların yaş ortalaması 59.1 olarak hesaplandı. Hastalarda en çok rastlanan ek hastalıklar; hipertansiyon, diabetes mellitus ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) idi. Hastaların dokuzunda herhangi bir ek hastalık raporlanmamıştı (Tablo 1).

Çalışmaya dâhil edilen 76 hastanın 54'ünde (%71.1) SARS-CoV-2'ye eşlik eden başka bir patojen saptanmadı. Hastaların 26'sında (%34.2) sadece bakteriyel etkenler, 17'sinde (%22.3) sadece viral etkenler, 11'inde (%14.5) hem bakteriyel hem viral etkenler saptandı; 22 (%28.9) hastada COVID-19'a eşlik eden ikinci bir patojen saptanmadı. Yoğun bakımda tedavi gören 27 hastanın 20'sinde (%74.1), serviste tedavi gören 49 hastanın 34'ünde (%69.3) SARS-CoV-2'den farklı bir veya birden fazla patojen saptandı. Çalışmamız kapsamında RT-PCR cihazı ile 54 hastanın solunum örneğinde toplam 81 patojen tespit edildi. Bu patojenlerin 24'ü (%29.6) *S. aureus*, 15'i (%18.5) *S. pneumoniae*, 13'ü (%16) influenza A, 5'i (%6.1) influenza C, 5'i (%6.1) RSV A/B, 4'ü (%4.9) *M. catarrhalis*, 4'ü (%4.9) RV, 4'ü (%4.9) *K. pneumoniae*, 2'si (%2.4) *H. influenzae*, 2'si (%2.4) koronavirus 229E ve geriye kalan üçü HBoV, koronavirus OC43 ve koronavirus NL63 olarak tespit edildi. Yoğun bakım ve servislerde tedavi gören hastalarda tespit edilen patojenlerin dağılımı Şekil 1'de verildi.

Gerçek zamanlı PCR ile koinfeksiyon saptanan 54 hastanın 35'inde SARS-CoV-2'ye eşlik eden bir patojen varken 19'unda birden fazla patojen tespit edildi. Tek bir patojen saptanan 35 hastanın 12'sinde (%34.3) influenza virusları (A ve C) tespit edildi; bunu 10 (%28.6) hastayla *S. aureus* takip ediyordu (Tablo 2). Yaptığımız çalışmada COVID-19 infeksiyonuna en sık olarak *S. aureus*'un eşlik ettiği, *S. aureus* ile birlikte en sık saptanan bakteriyel patojen *S. pneumoniae*, viral etken ise influenza A olarak tespit edildi Birden fazla patojenin saptandığı hastalar ve saptanan patojenler Tablo 3'te verildi.

Solunum yollarında SARS-CoV-2'den farklı bir veya birden fazla patojen saptanan 54 hastanın 15'inin (%27.7) PCT'si yüksekti; PCT değeri normal sınırların üstünde olan bu 15 hastanın 13'ünde bakteriyel bir etken saptanmadı. SARS-CoV-2'ye eşlik eden mikroorganizma tespit edilen 54 hastanın 19'unda (%35.1) lenfopeni görülürken 46 (%85.1)'sında LDH, 32'sinde (%59.2) ferritin, ve 32'sinde (%59.2) D-dimer yüksekliği saptandı. Patojen tespit edilmeyen 22 hastanın 7'sinde (%31.8) lenfopeni görülürken; 4'ünde (%18.1) PCT, 18'inde (%81.8) LDH, 12'sinde (%54.5) D-dimer ve 19'unda (%86.3) ferritin yüksekliği görüldü. Koinfeksiyon saptanan hastaların laboratuvar test sonuçlarının istatistiksel analizleri Tablo 4'te verildi.

Hastaların demografik özelliklerinden yaş ve cinsiyet; biyokimyasal parametrelerinden ise CRP, PCT, lenfosit sayısı, ferritin, LDH ve D-dimer düzeyleri değerlendirildi. Yaş ve cinsiyet dağılımları benzer olup hastalarda SARS-CoV-2'den farklı herhangi bir patojenin saptanıp saptanmaması CRP, PCT, lenfosit sayısı, ferritin, LDH, D-dimer düzeyleri açısından anlamlı bir fark yaratmıyordu. Hastanede yatış süresi, yatış yeri ve ek hastalık varlığı pozitiflik durumuna etki etmiyordu. Koinfeksiyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasında mortalite açısından da anlamlı düzeyde bir fark yoktu.

İRDELEME

COVID-19 pandemisi sürecinde; tedavi protokollerinin düzenlenmesi, tedavinin doğru yönetilmesi, profilaktik antibiyotiklerin gerekliliğinin doğru değerlendirilmesi için koinfeksiyon ve süperinfeksiyon risklerinin değerlendirilmesi önem kazanmıştır. COVID-19 ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı oranlarda koinfeksiyon saptandığı bildirilmiştir (1,5,8). Pandeminin erken dönemlerinde yapılan bir çalışmada, COVID-19 hastaları arasında bakteriyel koinfeksiyon oranının önceki influenza pandemilerine kıyasla düşük olduğu gösterilmiştir (8). Lansbury ve arkadaşlarının (9)

Tablo 3. Birden Fazla Patojen Tespit Edilen Hastalar ve Saptanan Mikroorganizmalar

N	*S. aureus*	*S. pneumoniae*	*M. catarrhalis*	Flu A	RSV A/B	RV	Diğer
20	-	-	-	-	-	✓	*K. pneumoniae*
23	-	-	-	-	✓	-	Cor 229E
24	-	✓	-	✓	-	-	-
25	✓	✓	-	✓	-	✓	-
32		✓	-	✓	-	✓	-
34	✓	✓	-	-	-	-	-
35	✓	-	-	-	✓	-	-
36	✓	-	-	✓	-	-	-
42	✓	-	-	✓	-	-	-
46	✓	✓	-	-	-	-	-
49	✓	-	-	✓	-	-	-
53	✓	-	-	-	✓	-	*H. influenzae*
55	✓	✓	✓	-	-	-	-
59	✓	✓	-	-	-	-	-
63	✓	✓	✓	-	-	-	-
64	✓	✓	-	-	-	-	Cor 43
65	✓	-	✓	-	-	-	-
72	-	✓	-	-	✓	--	Cor 229E
74	✓	✓	-	-	-	-	-

N: Hastaların çalışma sırasına göre numarası, ✓: Pozitif, **RSV:** Respiratuar sinsityal virus, **RV:** Rhinovirus, **Flu A:** İnfluenza virusu A, **Cor 229E:** Koronavirus 229E, **Cor 43:** Koronavirus OC43

3834 hasta ve 30 çalışmayı dâhil ettiği meta-analizde, COVID-19 hastalarının %7'sinde bakteriyel koinfeksiyonların görüldüğü, bu oranın yoğun bakım hastalarında daha yüksek (%14) olduğu bildirilmiştir. En yaygın olarak görülen bakterilerin *M. pneumonia, Pseudomonas aeruginosa* ve *H. influenzae* olduğu da belirtilmiştir.

Pakzad ve arkadaşlarının (10), koinfeksiyonların dünya çapında yaygınlığını araştırmak için 61 547 hastayı dâhil ederek yaptıkları meta-analiz çalışmasında, koinfeksiyona sıklıkla neden olan ajanların bakteriler olduğu ve prevalansın ise %20.9 olduğu bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada, bakterilerden daha az sıklıkta viral (%12.6) ve mantar (%12.6) koinfeksiyonlarının saptandığı belirtilmiştir. Pandeminin erken dönemlerinde Çin'de yapılan ve 257 COVID-19 hastasından alınan solunum yolu örneklerinin analiz edildiği bir çalışmada, PCR ile 39 solunum yolu patojeni taranmış ve hastaların 242 (%94.2)'sinde bir veya daha fazla patojen saptandığı bildirilmiştir; en sık saptanan patojenler *S. pneumoniae, K. pneumoniae* ve *H. influenzae*'dır (11). Amerika Birleşik Devletleri'nde gerçekleştirilen ve 12 705 solunum yolu örneğinde PCR ile SARS-CoV-2 ve 38 farklı viral, bakteriyel, fungal patojenin araştırıldığı bir çalışmada, hastaların %14'ünün test sonuçlarının SARS-CoV-2 için pozitif olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu çalışmada, pozitif olan grupta negatif olan gruba kıyasla bir veya birden fazla patojenle koinfeksiyon saptanma oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir; SARS-CoV-2 pozitif olan hastalarda en çok saptanan patojenler *S. aureus*, Epstein-Barr virusu (HHV4), insan herpes virusu 6 (HHV6), *M. catarrhalis* ve *K. pneumoniae*'dir. Ayrıca SARS-CoV-2 pozitif olan grupta, SARS-CoV-2 negatif olan gruba göre %31 daha fazla *S. aureus* saptandığı da bildirilmiştir (12). Çalışmamızda da 76 hastanın 54 (%71.1)'ünde multipleks PCR ile bir veya birden fazla solunum yolu patojeni saptandığı görülmüştür; en çok saptanan patojenler sırası ile *S. aureus, S. pneumoniae* ve influenza A idi.

Pandey ve arkadaşlarının (13) İngiltere'de gerçekleştirdiği ve yedi farklı sağlık kuruluşunun katıldığı çok merkezli gözlemsel kohort çalışmasında, COVID-19 tanısıyla yoğun bakımda tedavi edilen 299 hastada solunum yolu bakteriyel koinfeksiyon insidansı %40.5, sepsis insidansı %15.1 olarak bildirilmiştir; *S. aureus* ilk 48 saatte en sık izole edilen bakteriyel etken olarak raporlanmıştır. COVID-19 ve *S. aureus* koinfeksiyonlarının değerlendirildiği bir meta-analiz çalışmasında, hastaların %33.1'inin bakteriyel, viral veya fungal patojenlerle koinfekte olduğu, *S. aureus*/COVID-19 koinfeksiyon oranının ise %25.6 olduğu bildirilmiştir; bu sonuçlar COVID-19 ile *S. aureus* birlikteliğinin endişe verici olduğunu göstermiştir (14). *S. aureus* ile koinfeksiyonların bildirildiği çok sayıda çalışma, bu patojenin hastaneye yatışın ardından ilk günlerde solunum yollarından kültür veya PCR ile en fazla izole edilen etkenler arasında olduğunu göstermektedir; bunun yanında COVID-19 hastalarında geç sekonder solunum yolu infeksiyonlarının erken koinfeksiyonlara kıyasla daha yüksek oranda tespit edildiği bildirilmiştir (9,12-14). Geç sekonder solunum yolu infeksiyonlarında Gram-pozitif bakterilere kıyasla Gram-negatif bakteriler daha sık olarak infeksiyona neden olmaktadır (15). Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalarla benzer şekilde en sık eşlik eden bakteriyel etken olarak *S. aureus* tespit edildi.

İnfluenza ve SARS-CoV-2'nin koinfeksiyonları hem çocuk hem yetişkin hastalarda gösterilmiştir (16,17). İngiltere'de yapılan ve 6965 COVID-19 hastasında PCR ile influenza virusları, RSV ve adenovirus için viral ko-

Tablo 4. Genel pozitiflik saptanma durumuna göre hastaların demografik ve klinik bulguları ile kan parametreleri

	Genel Pozitiflik			
	Genel (n=76)	Saptanmayan (n=22)	Saptanan (n=54)	*p*
Demografik Özellikler				
Yaş (yıl) (Ortalama ± standart sapma)	59.15 ± 16.01 (26-90)	61.86 ± 14.26 (32-90)	58.04 ± 16.66 (26-88)	0.876[1]
Cinsiyet (K/E) n (%)	31 (40.8) / 45 (59.2)	11 (50) / 11 (50)	20 (37) / 34 (63)	0.432[2]
Kan Parametreleri				
C-reaktif protein medyan (min.-mak.)	108 (66.25-147.25)	110 (52.42-143.25)	108 (67.15-149.75)	0.814[3]
Prokalsitonin medyan (min.-mak.)	0.15 (0.07-0.44)	0.10 (0.08-0.34)	0.15 (0.07-0.53)	0.604[3]
Lenfosit medyan (min.-mak.)	1.1 (0.63-1.6)	1.05 (0.72-1.30)	1.10 (0.61-1.60)	0.638[3]
Ferritin medyan (min.-mak.)	431 (192-905.5)	595 (431-1050)	393.5 (179.75-791.75)	0.151[3]
LDH medyan (min.-mak.)	320 (258.5-41.85)	328 (256-409)	310 (259.75-419.25)	0.795[3]
D-dimer medyan (min.-mak.)	548 (303-998.5)	512 (299.5-773)	630 (305-1032)	0.463[3]
Klinik Bulgular				
Mortalite, n (%)	16 (21.1)	7 (31.8)	9 (16.7)	0.246[2]
Hastanede yatış süresi medyan (min.-mak.)	8.5 (4-51)	7 (4-51)	9.5 (4-48)	0.615[3]
Yatış yeri (Yoğun bakım/Servis), n (%)	27 (35.5) / 49 (64.5)	7 (31.8) / 15 (68.2)	20 (37) / 34 (63)	0.867[2]

[1]Bağımsız örneklemler t-testi.
[2]Yates süreklilik düzeltmeli χ^2 testi.
[3]Mann-Whitney U testi

infeksiyonların araştırıldığı bir çalışmada, 583 (%8.4) hastada söz konusu viruslarla koinfeksiyon saptandığı bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada, influenza virusu 227, RSV 220 ve adenovirus 136 hastada tespit edilmiş olup influenza virusları ile koinfeksiyonun hastaların invazif mekanik ventilasyon alma olasılığının artmasıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ayrıca influenza virusları ve adenovirusların neden olduğu koinfeksiyonların artan mortalite ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir (18). Bu çalışmayla benzer şekilde, çalışmamızda da koinfeksiyona en fazla neden olan viral etken influenza viruslarıydı; RSV A/B ikinci sıklıkta saptadığımız viral etken iken adenovirus koinfeksiyonu saptanmadı. Yaptığımız istatistiksel analizlerde, multipleks PCR ile farklı bir etken saptanan hastalarla, saptanmayanların ölüm oranları arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı. Bunun nedeninin çalışmamızın 76 hasta örneğini içeren örneklem boyutunun küçüklüğü olduğunu düşünüyoruz.

Son yıllarda hem epidemiyolojik hem deneysel çalışmalar ile klinik seyrin erken dönemlerinde viral bakteriyel etkileşimlerin önemine dikkat çekilmektedir. Konakta pnömokok kolonizasyonunun, konağın influenza viruslarına karşı mukozal antikor yanıtlarını azalttığı bildirilmiştir (19). Konaktaki *S. pneumoniae* kolonizasyonunun mukozal IgA seviyelerini ve hücresel immün yanıtı etkileyerek antiviral bağışıklık tepkilerini azalttığı ve konağı SARS-CoV-2'ye karşı hassaslaştırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (20). Bu çalışmalarla uyumlu olarak yaşlı erişkinlerde uygulanan konjuge pnömokok aşısının COVID-19 hastalarının hastaneye yatış ve ölüm oranlarındaki yaklaşık %30 oranındaki azalma ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir (21). İnfluenza pandemilerinde önemli bir koinfeksiyon etkeni olan *S. pneumoniae*, COVID-19 hastalarında da sıklıkla araştırılmıştır. COVID-19 ile *S. pneumoniae* koinfeksiyonlarının idrarda antijen testi ve direkt floresan antikor testiyle araştırıldığı bir çalışmada, 2782 COVID-19 hastasının 87 (%3)'sinde pnömokok koinfeksiyonu saptanmıştır. Söz konusu çalışmada, pnömokok koinfeksiyonunun diğer infeksiyonlar ile benzer klinik özellikler göstermesi, laboratuvar ve radyoloji bulgularının spesifik olmaması nedeniyle tanısının muhtemelen atlandığı, bu nedenle COVID-19 hastalarında *S. pneumoniae* ile koinfeksiyondan şüphelenilmesi gerektiği bildirilmiştir (22).

Pandemi süresince yapılan çalışmalarda; LDH, D-dimer, ferritin, PCT düzeyleri ve lenfosit sayısı, gibi biyokimyasal parametrelerin COVID-19'un şiddeti ve prognozu ile ilişkili oldukları görülmüştür (23). Moreno-García ve arkadaşlarının bakteriyel koinfeksiyonları araştırdıkları çalışmalarında, koinfeksiyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasında CRP, LDH, ferritin, D-dimer, lenfosit sayısı ve PCT gibi laboratuvar değerlerinin karşılaştırılmasında istatiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır (24). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan, COVID-19 hastalarında hastaneye yatış sırasındaki bakteriyel koinfeksiyonların değerlendirildiği ve 1016 hastanın dâhil edildiği çalışmada, koinfeksiyonu olan hastaların yoğun bakım ihtiyacının anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirtilmiştir. Ayrıca kanıtlanmış ve olası bakteriyel koinfeksiyonu olan ile koinfeksiyon saptanmayan hastalar için CRP ve ferritin değerleri karşılaştırılmış istatiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark bulunmamıştır (25). Çalışmamızda da farklı bir etken saptanan ve saptanmayan hastalar arasında laboratuvar testleri açısından istatiksel anlamda bir fark gözlemlenmedi. Bu nedenle, sadece biyokimyasal testler ile koinfeksiyon varlığının tahmin edilmesinin mümkün olamayacağı sonucuna varıldı.

Çalışmamıza dahil edilen hastalardan yatışları sırasında hem bulaşma olasılığını artırması hem de yalnızca klinik olarak bakteriyel koinfeksiyondan şüphelenilmesinin zor olması nedeniyle kan, balgam ve bronkoalveoler lavaj kültürleri alınmamıştı; bu nedenle de kolonizasyon ve koinfeksiyon ayrımı tam olarak yapılamadı. Çalışmamızın bir diğer kısıtlılığı

ise hasta sayısının az olması nedeniyle istatiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilememiş olmasıdır.

Çalışma kapsamında hastaların büyük bir çoğunluğunda SARS-CoV-2'ye eşlik eden en az bir patojen saptandı. COVID 19'a eşlik eden bakteriyel patojenler olarak en sık *S. aureus* ve *S. pneumoniae* tespit edildi. Koinfeksiyon etkeni olabilecek viral etkenler olarak ise en çok influenza virusları görüldü. Sonuç olarak; çalışmamızda eşlik eden patojen saptanan hastalarda mortalite oranı ve hastanede kalış süresi gibi parametrelerde anlamlı düzeyde bir fark saptanmamış olsa da klinisyenlerin hastaneye yatan hastaların takip ve tedavisinde koinfeksiyon riskini göz önünde bulundurarak şüphelenilen durumlarda uygun testleri yaptırmaları gerektiğini düşünüyoruz. Çalışmamız SARS-CoV-2'ye eşlik eden viral bakteriyel etkenlerin azımsanmayacak düzeyde olduğunu ve bu etkenlerin kliniğe olan etkilerini incelemek için daha spesifik ve geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu gösterdi. Ayrıca pandemi sürecinde özellikle riskli gruplarda COVID-19 aşılarının yanında, influenza ve pnömokok aşılarının göz ardı edilmemesi gerektiği düşüncesindeyiz.

Hasta Onamı

Laboratuvara gönderilen örneklerle çalışma yapıldığı için onam alınmamıştır.

Etik Kurul Kararı

Çalışma için Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından 28 Eylül 2021 tarih ve 2021/16 karar numarasıyla onay verilmiştir.

Danışman Değerlendirmesi

Bağımsız dış danışman.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram – H.T.D., U.A.; Tasarım – S.S.G., N.Ç.; Denetleme – H.T.D., U.A.; Kaynak ve Fon Sağlama – U.A., H.T.D.; Malzemeler/Hastalar – U.A., H.T.D.; Veri Toplama ve/veya İşleme – S.S.G., N.Ç.; Analiz ve/veya Yorum – S.S.G., N.Ç., U.A., H.T.D.; Literatür Taraması – S.S.G.; Makale Yazımı – S.S.G., N.Ç.; Eleştirel İnceleme – H.T.D., U.A., N.Ç.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek

Bu araştırma uzmanlık tezi çalışması olarak gerçekleştirilmiş olup Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 21122030 proje numarası ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Mirzaei R, Goodarzi P, Asadi M, et al. Bacterial co-infections with SARS-CoV-2. IUBMB Life. 2020;72(10):2097-111. [CrossRef]
2. Langford BJ, So M, Raybardhan S, et al. Antibiotic prescribing in patients with COVID-19: rapid review and meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 2021;27(4):520-31. [CrossRef]
3. Rawson TM, Ming D, Ahmad R, Moore LSP, Holmes AH. Antimicrobial use, drug-resistant infections and COVID-19. Nat Rev Microbiol. 2020;18(8):409-10. [CrossRef]
4. Ginsburg AS, Klugman KP. COVID-19 pneumonia and the appropriate use of antibiotics. Lancet Glob Health. 2020;8(12):e1453-4. [CrossRef]
5. Gomez GB, Mahé C, Chaves SS. Uncertain effects of the pandemic on respiratory viruses. Science. 2021;372(6546):1043-4. [CrossRef]
6. COVID-19 (SARS-CoV-2 Enfeksiyonu) Genel Bilgiler, Epidemiyoloji ve Tanı, 07 Aralık 2020 [Internet]. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. [erişim 8 Haziran 2022]. https://covid19.saglik.gov.tr/Eklenti/39551/0/covid-19rehberigenelbilgilerepidemiyolojivetanipdf.pdfhttps://covid19.saglik.gov.tr/Eklenti/39551/0/covid19rehberigenelbilgilerepidemiyolojivetanipdf.pdf
7. COVID-19 (SARS-CoV-2 Enfeksiyonu) (Bilim Kurulu Çalışması) Enfeksiyon Kontrol ve İzolasyon, 01 Haziran 2020 [Internet]. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. [erişim 2 Haziran 2022]. https://covid19.saglik.gov.tr/Eklenti/37699/0/covid-19rehberienfeksiyonkontroluveizolasyonpdf.pdf
8. Bergmann F, Gabler C, Nussbaumer-Pröll A, et al. Early bacterial coinfections in patients admitted to the ICU with COVID-19 or influenza: a retrospective cohort study. Crit Care Explor. 2023 ;5(4):e0895. [CrossRef]
9. Lansbury L, Lim B, Baskaran V, Lim WS. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. J Infect. 2020;81(2):266-75. [CrossRef]
10. Pakzad R, Malekifar P, Shateri Z, et al. Worldwide prevalence of microbial agents' coinfection among COVID-19 patients: A comprehensive updated systematic review and meta-analysis. J Clin Lab Anal. 2022;36(1):e24151. [CrossRef]
11. Zhu X, Ge Y, Wu T, et al. Co-infection with respiratory pathogens among COVID-2019 cases. Virus Res. 2020;285:198005. [CrossRef]
12. Massey BW, Jayathilake K, Meltzer HY. Respiratory microbial co-infection with SARS-CoV-2. Front Microbiol. 2020;11:2079. [CrossRef]
13. Pandey M, May A, Tan L, et al. Comparative incidence of early and late bloodstream and respiratory tract co-infection in patients admitted to ICU with COVID-19 pneumonia versus influenza A or B pneumonia versus no viral pneumonia: Wales multicentre ICU cohort study. Crit Care. 2022;26(1):158. [CrossRef]
14. Adeiza SS, Shuaibu AB, Shuaibu GM. Random effects meta-analysis of COVID-19/*S. aureus* partnership in co-infection. GMS Hyg Infect Control. 2020;15:Doc29. [CrossRef]
15. Bassetti M, Magnasco L, Vena A, Portunato F, Giacobbe DR. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lung infection in coronavirus disease 2019: how common? Curr Opin Infect Dis. 2022;35(2):149-62. [CrossRef]
16. Cuadrado-Payán E, Montagud-Marrahi E, Torres-Elorza M, et al. SARS-CoV-2 and influenza virus co-infection. Lancet. 2020;395(10236):e84. [CrossRef]
17. Wu Q, Xing Y, Shi L, et al. Coinfection and other clinical characteristics of COVID-19 in children. Pediatrics. 2020;146(1):e20200961. [CrossRef]
18. Swets MC, Russell CD, Harrison EM, et al; ISARIC4C Investigators; Visser LG, Openshaw PJM, Groeneveld GH, Semple MG, Baillie JK. SARS-CoV-2 co-infection with influenza viruses, respiratory syncytial virus, or adenoviruses. Lancet. 2022;399(10334):1463-4. [CrossRef]
19. Carniel BF, Marcon F, Rylance J, et al. Pneumococcal colonization impairs mucosal immune responses to live attenuated influenza vaccine. JCI Insight. 2021;6(4):e141088. [CrossRef]
20. Mitsi E, Reiné J, Urban BC, et al. *Streptococcus pneumoniae* colonization associates with impaired adaptive immune responses against SARS-CoV-2. J Clin Invest. 2022;132(7):e157124. [CrossRef]
21. Lewnard JA, Bruxvoort KJ, Fischer H, et al. Prevention of coronavirus disease 2019 among older adults receiving pneumococcal conjugate vaccine suggests interactions between *Streptococcus pneumoniae* and severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in the respiratory tract. J Infect Dis. 2022;225(10):1710-20. [CrossRef]
22. Anton-Vazquez V, Clivillé R. *Streptococcus pneumoniae* coinfection in hospitalised patients with COVID-19. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2021;40(6):1353-5. [CrossRef]
23. Li C, Ye J, Chen Q, et al. Elevated lactate dehydrogenase (LDH) level as an independent risk factor for the severity and mortality of COVID-19. Aging (Albany NY). 2020;12(15):15670-81. [CrossRef]
24. Moreno-García E, Puerta-Alcalde P, Letona L, et al; COVID-19-researcher group. Bacterial co-infection at hospital admission in patients with COVID-19. Int J Infect Dis. 2022;118:197-202. [CrossRef]
25. Karaba SM, Jones G, Helsel T, et al. Prevalence of co-infection at the time of hospital admission in COVID-19 patients, a multicenter study. Open Forum Infect Dis. 2020;8(1):ofaa578. [CrossRef]